# ESTUDIOS TAXONOMICOS, ONTOGENETICOS, ECOLOGICOS Y ETOLOGICOS SOBRE LOS OSTRACODOS DE AGUA DULCE EN COLOMBIA — II. CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO TARDIO Y DE LOS PROCESOS DE LA ECLOSION DEL HUEVO DE *HETEROCYPRIS BOGOTENSIS* ROESSLER (OSTRACODA, PODOCOPA, CYPRIDIDAE)

Por

Ewald W. Roessler *

## RESUMEN

El presente estudio da una breve descripción del huevo de *Heterocypris bogotensis* Roessler con énfasis en la estructura de las capas del huevo y su papel ecológico. Se presenta una etapa ontogenética hasta la fecha desconocida, la cual se destaca por la formación de un tronco relativamente grande que se reduce después de la secreción de una cutícula iniciándose una muda embrionaria compleja. Se muestra el papel del exoesqueleto embrionario en los sucesos durante la salida de las capas del huevo. Se discuten brevemente cuestiones filogenéticas.

## SUMMARY

The present study gives a short description of the egg off *Heterocypris bogotensis* Roessler with special consideration of the structure of the eggshell and its ecological importance. An up to date unknown embriological stage is presented that sticks out by the formation of a trunk that will be reduced after the secretion of a cuticula within the iniciation of an embriological molting process. The role of the embriological exoskeleton during hatching is described and phylogenetic questions are shortly discussed.

## ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie wird eine kurze Beschreibung des Eies von *Heterocypris bogotensis* Roessler gegeben unter Beruecksichtigung der Struktur der Eihuellen und ihrer oekologischen Bedeutung. Es wird auf die Ent-

---

* Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá.

wicklung eines bisher unbekannten embryonalen Stadiums eingegangen, das sich durch die Ausbildung eines Rumpfes auszeichnet, der nach Abscheidung einer Kutikula und Einleitung einer embryonalen Haeutung wieder rueckgebildet wird. Die Bedeutung des abgeschiedenen Exoskeletts waehrend des Schlupfprozesses wird aufgezeigt, der Schlupfvorgang beschrieben. Auf phylogenetische Fragestellungen wird kurz eingegangen.

## INTRODUCCION

El desarrollo ontogenético de los ostrácodos rara vez ha sido objeto de estudios. Especialmente la fase embrionaria deja una serie de interrogantes a pesar de una investigación cuidadosa sobre la embriología de *Cyprideis litoralis* (G. S. Brady) presentada por Weygoldt (1960). Las etapas tardías del desarrollo embrionario que incluyen los procesos de la preparación del embrión para la salida de las capas del huevo y especialmente el proceso de la salida se desconocen casi por completo (comp. Hartmann, 1968). Muy poco se sabe sobre la formación de los huevos y prácticamente nada alrededor de las capas del huevo a pesar de la importancia que tienen estas estructuras para la garantización del desarrollo del embrión.

Este estudio tiene como objetivo principal la descripción del huevo de *Heterocypris bogotensis* Roessler, con énfasis en la descripción de la estructura de su cáscara, la presentación de algunos hechos alrededor de la formación del embrión en etapas tardías del desarrollo y de sus relaciones con los procesos de la salida de las capas del huevo. Se hace énfasis en la presentación de una etapa ontogenética hasta la fecha desconocida, cuya naturaleza como embrión o larva se discutirá.

El estudio fue apoyado por Colciencias (Proyecto No. 20004-1-20-78) y por la Universidad de los Andes.

## MATERIALES Y METODOS

Los huevos de *Heterocypris bogotensis* Roessler fueron obtenidos de la localidad del holótipo descrito en el estudio anterior de esta serie (Roessler, 1981 I). Como fijativo se usó líquido según Stieve (Romeis, 1948, p. 74) y formol 6%. Los estudios histológicos se realizaron a partir de cortes en parafina; como colorantes se aplicaron haematoxilina y eosina. Las disecciones se llevaron a cabo mediante el uso de agujas de disección.

En el texto se usan las siguientes abreviaturas:

Al: Primera antena (anténula); An: Segunda antena (antena); c.a.: cámara anterior del exoesqueleto prenauplial; c.e.: capa externa; c.i.: capa interna; e.: embrión; m.: metanauplio; m.s.: membrana separadora; o.n.: ojo nauplio; p.c.: proceso caudal.

## EL HUEVO

Los huevos de *Heterocypris bogotensis* Roessler tienen un tamaño entre 100 y 160 micras, aproximadamente (diámetro externo). Según la dieta presentan un color entre naranja intenso y amarillo hasta blanco. Los individuos tienden a poner los huevos en grupos sobre la superficie de plantas u objetos sumergidos (Fig. 1). Son escasos los huevos que se encuentran sueltos dentro del lodo. Los huevos son ricos en vitelo y muestran una capa doble (Figs. 2, 3, 4 y 5). La capa externa muestra dentro del oviducto dos capas delgadas entre las cuales se encuentra una zona vacuolada. Los cortes histológicos no permiten reconocer si se trata de diferentes sustancias en diferentes zonas o si posiblemente las capas limitantes representan solamente zonas de mayor densidad, como aparecen en estado hinchado después de la puesta del huevo (comp. Figs. 2 y 3). La capa interna tiene apariencia quitinosa y posiblemente representa una capa primaria del oocito (comp. Korschelt y Heider, 1933).

La estructura de las capas del huevo debe mencionarse como compromiso entre los requerimientos de la función protectora y de las necesidades respecto al intercambio de materiales. En primer lugar se destaca la función protectora que impide infecciones, el ataque por parte de hongos y predadores y daños mecánicos. La función protectora proporciona la formación de capas fuertes y gruesas. La necesidad del intercambio de materiales entre el huevo y el medio ambiente, especialmente durante el desarrollo del embrión limita el espesor de las capas.

Los huevos de los ostrácodos de agua dulce generalmente son resistentes a la deshidratación temporal y especialmente el género *Heterocypris* parece ser adaptado a la vida en pozos temporales (comp. Klie, 1930). *Heterocypris bogotensis* Roessler muestra ciertas características en sus relaciones ecológicas que reiteran esta hipótesis. En cuanto a la estructura de las capas del huevo, ya fue anotado anteriormente que la capa externa después de la puesta sufre un hinchamiento considerable. Este hinchamiento posiblemente se debe a la existencia de sustancias hidratables dentro de las vacuolas. El tamaño de estas vacuolas es mucho más grande en la periferia que cerca de la capa interna (Figs. 3, 4 y 5). Durante las sequías, que cierta cantidad de los huevos requiere como estímulo para la iniciación del desarrollo, se produce una deshidratación también en las vacuolas. Al hidratarse nuevamente el huevo se observa que una gran parte de las vacuolas no vuelve a llenarse con agua, lo que da al huevo un aspecto blanco por la reflexión total de la luz sobre el aire mantenido dentro de las vacuolas. Se puede mencionar, que este aire retenido funciona como especie de "pulmón físico", que posiblemente acelera bajo ciertas condiciones el intercambio gaseoso. El intercambio de otras sustancias sueltas, sin embargo, no se interrumpe. Durante la deshidratación y

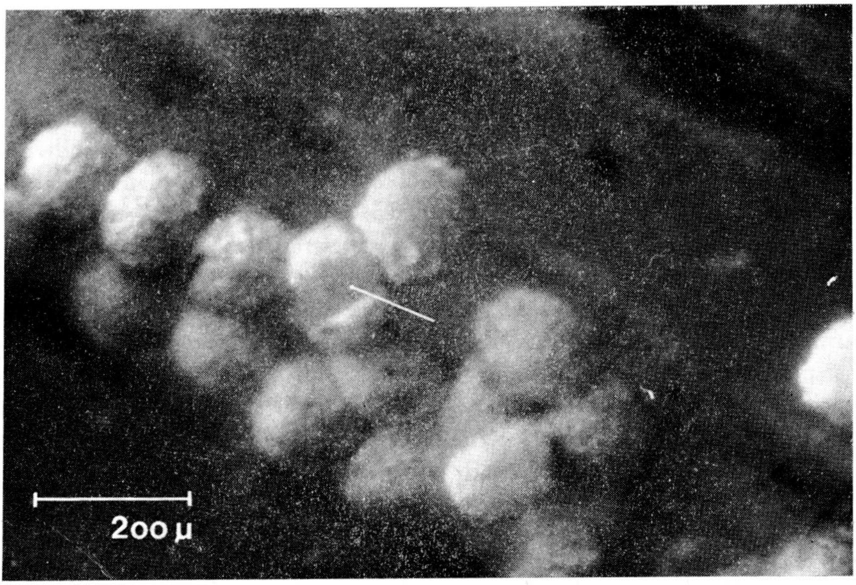

Figura 1. Grupo de huevos de *Heterocypris bogotensis* Roessler pegados sobre un trozo de tejido vegetal. La flecha indica una larva que ha roto la cáscara del huevo y se encuentra inmediatamente antes de la salida. El ojo nauplio se puede apreciar.

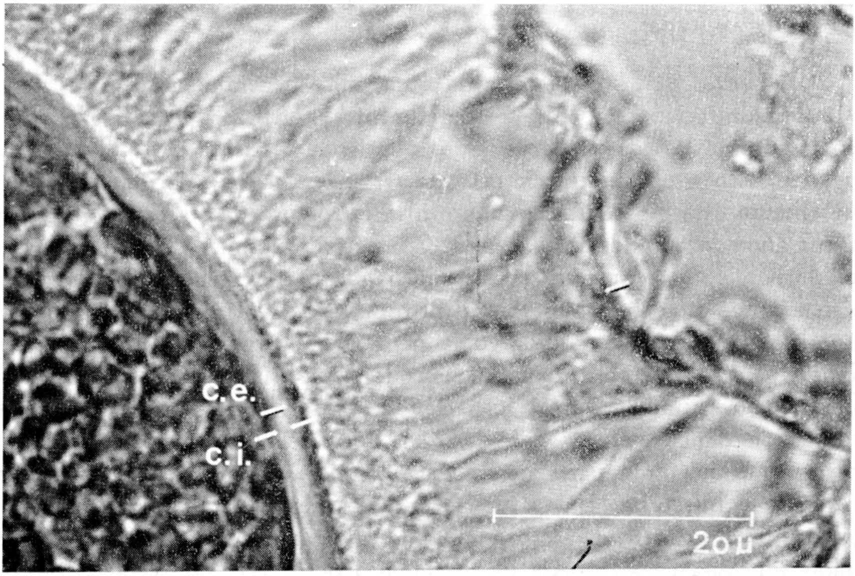

Figura 2. Aspecto de las capas del huevo antes de la puesta. Las flechas indican los límites de las respectivas capas.

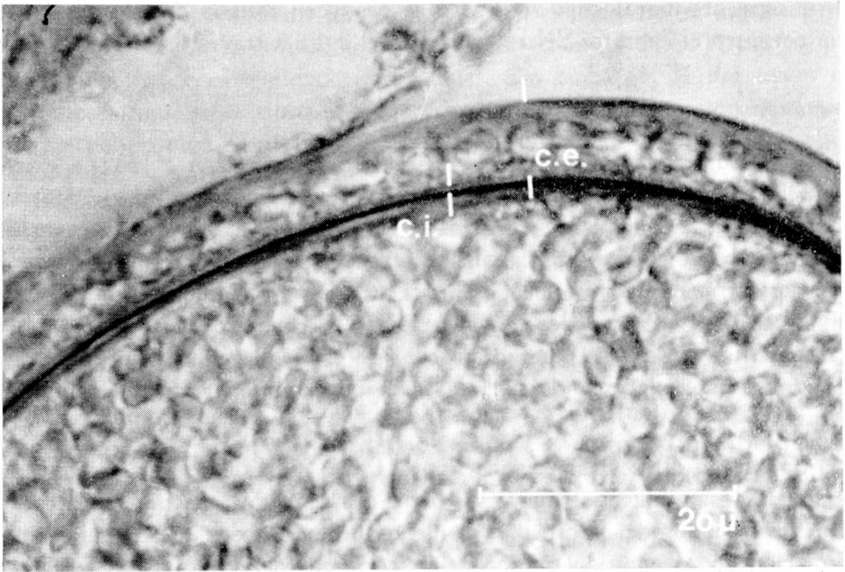

FIGURA 3. Aspecto de las capas del huevo después de la puesta. Las flechas indican los límites de las respectivas capas.

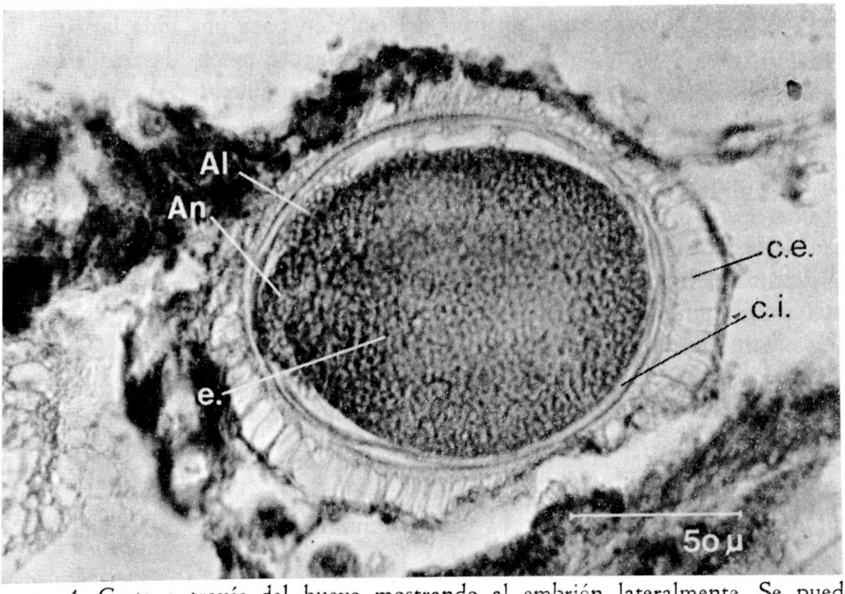

FIGURA 4. Corte a través del huevo mostrando al embrión lateralmente. Se pueden apreciar las primeras y segundas antenas. Embrión después de la reducción del proceso caudal. La capa externa muestra diferente espesor según el espacio disponible durante la puesta.

la subsiguiente hidratación del huevo se producen roturas de la capa externa que permiten el contacto del embrión con el agua a través de la capa interna.

*Prenauplio y muda embrionaria.*

La deshidratación temporal de los huevos proporciona a la capa externa vacuolada un aspecto blanco (véase arriba). Solamente en algunos lugares se puede apreciar el contenido anaranjado a través de la capa interna transparente. Estos huevos no se prestan para la observación de la formación del embrión. Más aptos son aquellos huevos que por no sufrir una sequía temporal conservan el agua adentro de las vacuolas de la capa externa, la cual queda transparente. El valor de este hecho consiste en la posibilidad de controlar el desarrollo embrionario y de fechar las etapas embrionarias en términos generales.

Se pueden diferenciar tres fases antes de la salida de la larva de la cáscara del huevo. La puesta del huevo inicia la primera fase que incluye facultativamente períodos de reposo más o menos prolongados y que culmina en la formación de un embrión que presenta tres pares de extremidades y la secreción de una cutícula (Fig. 4). La formación de un exoesqueleto cuticular indica la preparación del embrión para una vida larvaria afuera de la cáscara protectora del nuevo. Sin embargo, fuera de este hecho no se presentan rasgos morfológicos que indiquen la aptitud del embrión para una vida larvaria. Los tres pares de extremidades son morfológicamente poco desarrollados, las uñas terminales y las cerdas aparecen más bien rudimentarias, con extremos redondos y las articulaciones de las extremidades con la pared corporal no permiten una gran movilidad. Especialmente las primeras antenas quedan casi inmóviles por originarse en una bolsa epidermal en la parte delantera del embrión. Esta posición probablemente se debe a los procesos morfogenéticos que desplazan a las primeras antenas hacia adelante y arriba, y a la formación del caparazón bivalvo (comp. Weygoldt, 1960). Cabe destacar que en esta etapa embrionaria el caparazón bivalvo se identifica solamente a través de un doblamiento muy fino, casi no apreciable, que se extiende lateralmente a lo largo del origen de las extremidades y se abre en la parte delantera formando superficialmente la bolsa anteriormente mencionada.

La ineptitud del embrión para una vida larvaria afuera de la cáscara protectora del huevo se expresa también en el desarrollo rudimentario del ojo nauplio, que en esta etapa todavía no muestra ninguna diferenciación visible de pigmentos.

La presencia de tres pares de extremidades, las cuales son las primeras antenas, las segundas antenas y las mandíbulas, y el hecho de que no se presenten rudimentos de extremidades adicionales, justifica la caracterización de esta etapa embrionaria como nauplio. Más específicamente se trata de un "ortonauplio", según la definición de Korschelt y Heider (1933), por no poseer rudimentos de extremidades adicionales. Sin embargo, la definición de estos autores caracteriza a una etapa larvaria y no embrionaria como en el caso presente, por lo cual se propone su denominación como "prenauplio".

Carácter bien particular recibe el prenauplio por la presencia de un tronco relativamente largo en la parte caudal del cuerpo (comp. Figs. 5, 7, 8 y 9). Para evitar interpretaciones prematuras en cuanto al valor filogenético de esta estructura se propone su denominación como "proceso caudal". Dentro de la luz de la cáscara del huevo, que cuenta solamente con espacio limitado, el proceso caudal se encuentra en posición encurvada (Fig. 5).

La denominación de una segunda fase en la secuencia de los procesos ontogenéticos subsiguientes antes de la eclosión se justifica por la particularidad de unos hechos morfogenéticos y su importancia en los procesos que llevan a cabo la salida de las capas del huevo al culminarse la tercera fase. La segunda fase comienza después de la formación del exoesqueleto del prenauplio que incluye al proceso caudal. Consiste en la retirada del material embrionario del proceso caudal en dirección anterior. Se trata de un proceso de migración celular en un tiempo sumamente corto que causa el acortamiento creciente del proceso caudal. La cutícula del proceso caudal se comprime paulatinamente, arrugándose y formando pliegues transversales sobre el perímetro del proceso caudal. Al finalizarse la retirada del material celular se secreta una cutícula que tapa la luz del proceso caudal en su conexión con la parte anterior del exoesqueleto prenauplial. El tamaño del proceso caudal, en este momento representado solamente por su cutícula arrugada, queda reducido de tal forma que su presencia no es fácilmente apreciable.

Con el cierre de la luz de la base del proceso caudal a través de la secreción de una membrana cuticular se inicia una tercera fase que incluye la formación del metanauplio dentro del exoesqueleto cuticular del prenauplio. En determinado momento se retira el material embrionario de la cutícula prenauplial también en la cámara anterior del exoesqueleto, causando este proceso un arrugamiento de la superficie de su cutícula. La secreción de la cutícula del metanauplio indica el alistamiento de esta etapa ontogenética para la salida de las capas del huevo y de la exuvia del prenauplio. Sin embargo, sigue un período prolongado de diferenciación morfogenética e histológica antes de llevarse a cabo la eclosión. La segunda y tercera fase deben mencionarse como un primer paso de una muda compleja que termina después de la eclosión con la rotura de la exuvia prenauplial.

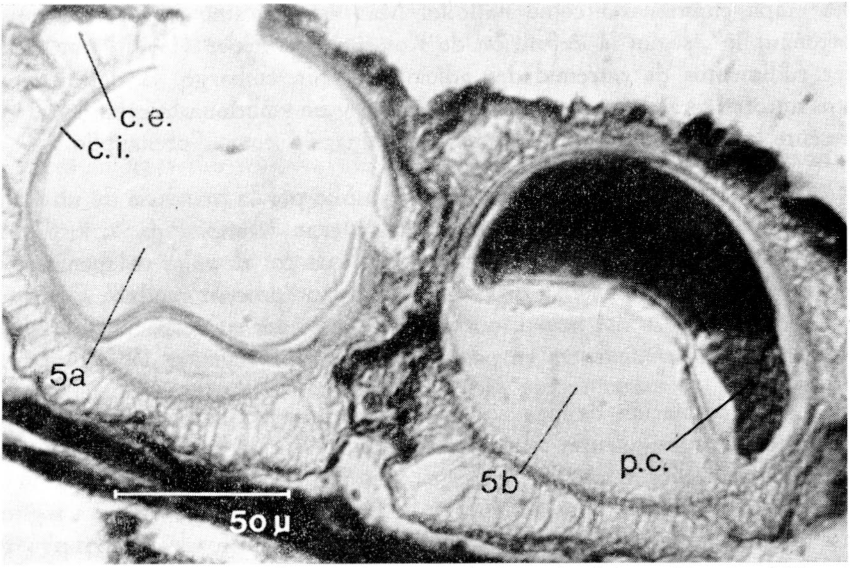

FIGURA 5. Corte a través de una cáscara ya desocupada (a) y de un embrión con proceso caudal dentro de las capas del huevo (b). Por la posición encurvada del proceso caudal no aparece el embrión en forma completa en este corte.

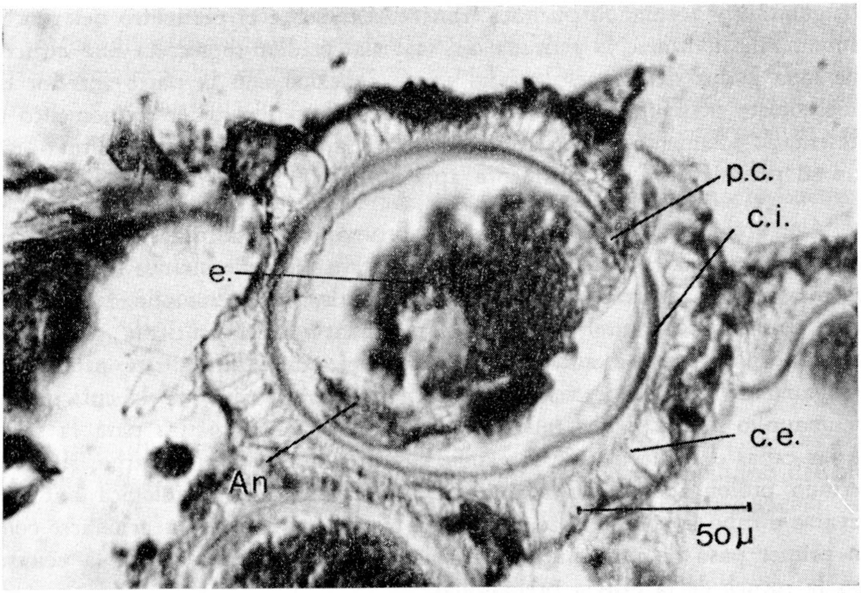

FIGURA 6. El corte muestra una larva muerta en "posición inversa" que no ha podido salir de las capas del huevo. El contorno del proceso caudal se puede apreciar parcialmente en la rotura de la cáscara del huevo.

### *Eclosión y fase final de la primera muda.*

Como antes se mencionó, poco se sabe acerca de los procesos que llevan a cabo la salida del metanauplio de la cáscara del huevo, los pocos datos existentes han sido informados por Hartmann (1968, p. 525). Es obvio que la salida de la larva requiere la rotura de las capas del huevo. Sobre el mecanismo de este proceso se encuentran datos que indican que la actividad de las extremidades del metanauplio rompe las estructuras protectoras. El presente estudio logró verificar un proceso completamente distinto en el caso de *Heterocypris bogotensis* Roessler. El estudio incluyó también *Heterocypris incongruens*, de origen europeo, y diversas especies de los géneros *Chlamydotheca*, *Strandesia* y *Potamocypris*. Estas especies muestran con ligeras variaciones procesos idénticos al salir de las capas del huevo.

En *Heterocypris bogotensis* Roessler el proceso de la salida se cumple a 22°C dentro de doce minutos, aproximadamente. El período más largo cubre la ruptura de las capas del huevo, proceso que requiere diez minutos, aproximadamente. La ruptura se produce a través del hinchamiento creciente del exoesqueleto prenauplial, especialmente del proceso caudal, a causa de procesos de naturaleza osmótica. Al alcanzar una rotura suficientemente grande para dejar pasar a la larva, ésta sale pasivamente en forma lateralmente compresa con el eje dorsoventral en dirección de la rotura. La larva sale relativamente lenta hasta alcanzar a exteriorizar aproximadamente la mitad del cuerpo coincidente con el diámetro más grande. Este proceso requiere aproximadamente un minuto y medio. A partir de este momento, las fuerzas retenedoras de las capas elásticas son superadas. Por la forma cónica del exoesqueleto prenauplial en estado hinchado y por la elasticidad de las capas del huevo que tienden a cerrar la rotura, se produce un impulso hacia adelante apoyado por la presión hidrostática de la parte anterior del exoesqueleto que tiende a redondearse y por el impulso que ejerce el proceso caudal contra la pared interior de la cáscara. La larva sale dentro de tres segundos hasta alcanzar con la punta del proceso caudal la rotura de las capas del huevo. Cabe mencionar que la superficie externa del proceso caudal muestra una consistencia pegajosa que probablemente se debe a un líquido no mezclable con agua, cuyas gotas se pueden apreciar en la superficie del proceso caudal (Fig. 7). Después de dos o tres minutos comienza a perderse la consistencia pegajosa del proceso caudal, en muchos casos el exoesqueleto prenauplial intacto con el metanauplio adentro se separa del resto del huevo y se baja pasivamente al fondo. En otros casos queda pegado.

Después de la eclosión se inicia la última fase de la primera muda que comenzó dentro de la cáscara del huevo con la separación del material embrionario de la cutícula prenauplial y la secreción de la cutícula metanauplial y que culmina en la salida de las capas del huevo del metanauplio dentro del exoesqueleto intacto prenauplial. La ruptura de la parte anterior del exoesqueleto del prenauplio se produce a causa de la presión hidrostática creciente en lugares determinados. La cutícula se abre primero en frente de los bordes anteriores de las valvas del metanauplio y la rotura se agranda hacia abajo y atrás. Sale el metanauplio en dirección anterior impulsado por la presión que ejerce la membrana separadora contra la parte caudal del metanauplio. En este momento comienzan a actuar las extremidades y sale la larva nadando.

La retirada del material embrionario del proceso caudal presenta aparentemente una etapa muy crítica que sufre una serie de estorbos. Se presenta una serie de malformaciones que consiste en prenauplios que muestran una retirada incompleta del material embrionario de la exuvia del proceso caudal. En unos casos salen de las cáscaras de los huevos individuos que carecen de cualquier retirada del material embrionario del proceso caudal (Fig. 8). En otros casos más frecuentes se observa una retirada incompleta (Fig. 9). En todos estos casos se observa la tendencia del material ectodérmico de redondearse y de llevar a cabo una separación en aquella zona del prenauplio que normalmente forma la membrana cuticular entre el proceso caudal y la cámara anterior. En ningún caso se observa una separación completa por parte de una cutícula en este lugar, mientras quede material celular en el proceso caudal. Se produce una incisura redonda en la zona de fusión de las dos partes (Fig. 9). Rara vez sobreviven larvas malformadas mientras el material restante en el proceso caudal no supere un límite crítico. Resulta más tarde un metanauplio que muestra incisuras también en sus valvas.

Los individuos malformados o muertos casi siempre salen de forma normal de las capas del huevo mientras no se rompa el proceso caudal y mientras queden en una posición que permita salir primero la parte anterior del prenauplio con el proceso caudal contra la pared opuesta a la rotura de las capas. En el caso contrario de una "posición inversa" sale primero el proceso caudal y se interrumpe la eclosión (Fig. 6). Cabe mencionar que la interrupción de la salida de las capas del huevo no se debe a la muerte de la larva durante el proceso sino a la posición inversa.

## *Discusión.*

Los procesos anteriormente mencionados dejan una serie de interrogantes de diferente índole, de los cuales solamente unos pocos serán tratados en este estudio. Interés especial merece el estudio de la anatomía del prenauplio y de los procesos en los cambios morfogenéticos del proceso caudal. El proceso caudal tiene que mencionarse en un sentido comparativo como una especie de tronco. La aparición de un tronco relativamente bien desarrollado en el embrión de un grupo de "crustáceos inferiores", cuya particularidad taxo-

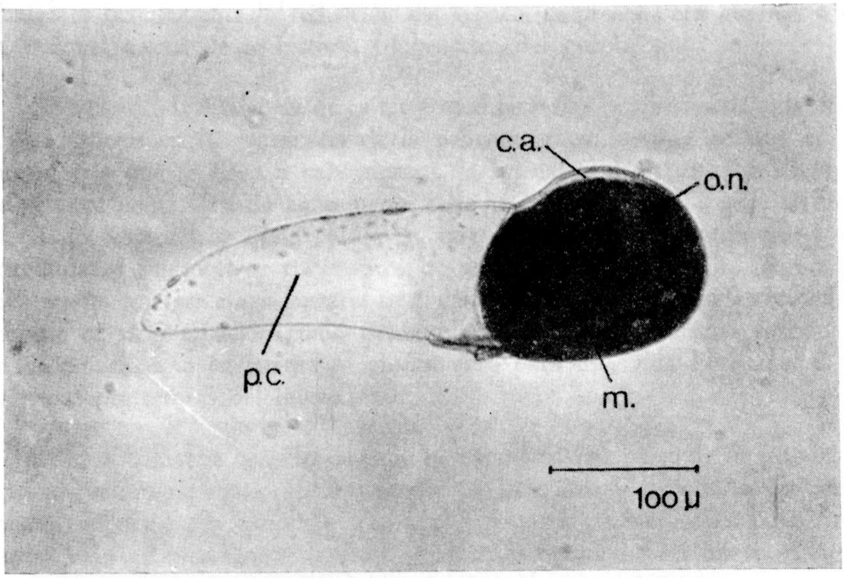
c.a.
o.n.
p.c.
m.
100 µ

Figura 7. Metanauplio después de la eclosión dentro del exoesqueleto prenauplial hinchado.

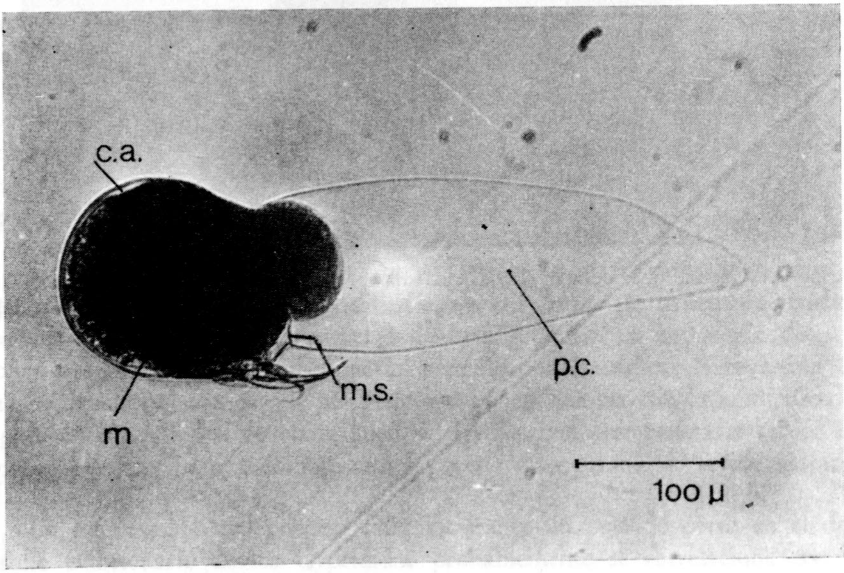
c.a.
m
m.s.
p.c.
100 µ

Figura 8. Prenauplio "malformado" que salió muerto de la cáscara del huevo. Vista lateral.

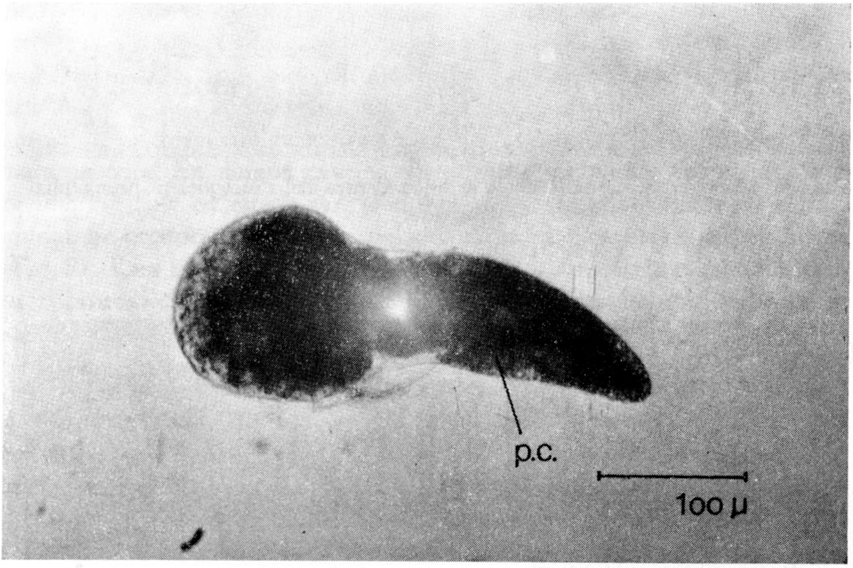

FIGURA 9. Metanauplio dentro de la cutícula prenauplial hinchada después de la eclosión. Se observa una retirada incompleta del material celular del proceso caudal.

nómica es precisamente la reducción del tronco, se presta para algunas consideraciones acerca de la historia filogenética del grupo.

Se reconoce la tendencia de evitar etapas larvarias tempranas de vida libre que se expresa en la conversión de la primera etapa larvaria en una etapa embrionaria que se lleva a cabo dentro de las capas protectoras del huevo. La primera etapa larvaria típicamente sería un "ortonauplio", según la definición de Korschelt y Heider (1933), que se caracteriza por tres pares de extremidades sin mostrar rudimentos de extremidades adicionales. Por convertirse esta primera etapa larvaria en el caso presente en una fase embrionaria propuse su denominación como prenauplio expresando al mismo tiempo el estado embrionario en cuanto al alistamiento para una vida libre afuera de las capas protectoras del huevo.

La primera etapa larvaria de vida libre muestra tres pares de extremidades y un par de rudimentos adicionales, lo que permite su denominación como "metanauplio", según Korschelt y Heider (1933). En los crustáceos con cada muda larvaria típicamente aparece un par de extremidades nuevas en el curso de un desarrollo de anamería regular (comp. Kaestner, 1967). La existencia de rudimentos de extremidades puede significar teóricamente dos direcciones opuestas de tendencias filogenéticas. Por un lado puede tratarse de una supresión creciente de las extremidades como ha ocurrido aparentemente en el caso presente o, por otro lado, puede tratarse de una aceleración en el desarrollo ontogenético, presentándose rudimentos de extremidades en etapas a las cuales todavía no corresponden, según el concepto de un desarrollo de una anamería regular. Aplicando este concepto al caso del metanauplio de los Cyprididae se reconoce que se trata de una etapa larvaria a la cual filogenéticamente corresponden cuatro pares de extremidads y que originalmente presentó la segunda etapa larvaria en el curso de un desarrollo de una anamería regular.

La existencia de un tronco en una etapa embrionaria permite mencionar que los antecesores de los Cyprididae tendieron hacia un desarrollo directo, posiblemente con más de tres pares de extremidades. La reducción de este tronco después de la formación de la cutícula podría indicar la inversión de esta tendencia por causas que posiblemente tienen que ver con la aparición del caparazón bivalvo. Faltan conocimientos del desarrollo embrionario tardío de especies marinas para formular una hipótesis más general y fundamentada.

La conservación del proceso caudal durante un período corto en el desarrollo embrionario de los Cyprididae probablemente se correlaciona con la necesidad de la formación del exoesqueleto prenauplial de forma alargada por su función en los procesos de la eclosión.

La aplicación de procesos osmóticos en la eclosión obviamente tiene ventajas en comparación con el uso de las extremidades a través de actividades musculares. Especialmente en el caso de especies que viven en pozos temporales se observa frecuentemente que los huevos son tapados y encerrados en materiales que adquieren durante las sequías una dureza insuperable para larvas que tienen que salir de la cáscara del huevo a través de la actividad de las extremidades. Hay que mencionar que las larvas ni siquiera son capaces de salir de las capas del huevo cuando se rompe accidentalmente o por experimento la cutícula del proceso caudal. Las fuerzas elásticas de la cáscara del huevo que tienden a cerrar las roturas aplastan a una larva que no cuenta con un exoesqueleto prenauplial hinchado.

## OBRAS CITADAS

HARTMANN, Gert.

1968: in Dr. H. G. Bronns, Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. 5, I. Abt., 2. Buch, IV. Teil, 3. Lieferung, Ostracoda, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft. Geest & Portig K.-G. pp. 409-568, figs. 261-373.

KAESTNER, Alfred.

1967 Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Bd. 1, II. Teil, Stuttgart, Gustav Fischer Verlag. pp. 970-981.

KLIE, Walter.

1930 Ostracoden aus dem paraguayischen Teile des Gran - Chaco. Arch. Hydrobiol. **22:** 221-258.

KORSCHELT, E. und K. HEIDER.

1933 Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Tierre. G. Fischer, 2. Aufl., Jena. pp. 571-634.

ROESSLER, Ewald W.

1982 Estudios taxonómicos, ontogenéticos, ecológicos y etológicos sobre los ostrácodos de agua dulce en Colombia — I. Estudio morfológico de una nueva especie colombiana del género *Heterocypris* Claus, 1892 (Ostracoda, Podocopa, Cyprididae). Caldasia, **13** (63): 429-452.

ROMEIS, Benno.

1948 Mikroskopische Technik, 15. Aufl. Leibniz Verlag, Muenchen, pp. 1-695.

WEYGOLDT, Peter.

1960 Embryologische Untersuchungen an Ostrakoden: Die Entwicklung von *Cyprideis litoralis* (G. S. Brady), (Ostracoda, Podocopa, Cytheridae). Zool. Jb. Anat., **78:** 369-426.